

## 医薬品クラリスロマイシン水和物結晶多形観測のための湿度制御下粉末 X 線回折測定

### X-ray Powder Diffraction Data Collection and Analysis for Polymorphism of Pharmaceutical Clarithromycin Hydrate Crystals

野口 修治<sup>a</sup>, 岩尾 康範<sup>a</sup>, 三浦 圭子<sup>b</sup>, 板井 茂<sup>a</sup>  
 Shuji Noguchi<sup>a</sup>, Yasunori Iwao<sup>a</sup>, Keiko Miura<sup>b</sup>, Shigeru Itai<sup>a</sup>

<sup>a</sup> 静岡県大薬, <sup>b</sup> (公財)高輝度光科学研究センター,  
<sup>a</sup> School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, <sup>b</sup> JASRI.

クラリスロマイシンは 14 員環マクロライド系抗生物質であり, その準安定形である I 型結晶は高湿度下および水溶液中で水和物結晶である IV 型結晶へと転移することが明らかとなっている。本課題では, IV 型結晶が低湿度条件下において非対称単位に非水素原子を 100 個以上含むと考えられる新規の IV-B 型結晶へと転移することを粉末 X 線解析法により初めて明らかにし, 結晶学的特徴付けを行った。本課題の成果は IV 型結晶を利用した新規製剤開発を促進すると期待できる。

キーワード: 結晶多形, 粉末 X 線解析, クラリスロマイシン

#### 背景と研究目的:

結晶多形および多形間の転移現象は, 医薬品原薬の製造あるいは保管過程や, 投与後の生体内においても生じる事象である。医薬品としての重要な物性である溶解速度やバイオアベイラビリティなどは結晶形により大きく異なることから, 医薬品の新規製剤設計を行うためには, 医薬品原薬の結晶多形について詳細に解明しておく必要がある。クラリスロマイシン(CAM; C<sub>38</sub>H<sub>69</sub>NO<sub>13</sub>; 図 1)は, クラミジアやマイコプラズマなどに対する広範な抗菌スペクトルをもつ 14 員環マクロライド系抗生物質であり, その安定形である II 型結晶を用いた製剤[1,2]が広く臨床現場で利用されている。CAM の結晶多形のうち準安定形である I 型結晶は, II 型結晶に比べて溶解速度が速いなど新規製剤に応用可能な優れた特性を有しているが, 良好な単結晶が得られないことから結晶構造は未知であった。申請者らは SPring-8 において測定した粉末 X 線回折強度データを利用して I 型結晶の構造を決定し[3], さらに I 型結晶が高湿度下で水和物結晶(IV 型結晶)へと相転移することを見いだした[4]。さらに I 型から IV 型結晶への相転移は, I 型結晶を用いた製剤が水溶液中で溶解する過程でも生じることを明らかにし, その結晶相転移も利用した放出制御製剤の特許出願を行っている[5]。しかし, IV 型結晶については, その安定性や多形相転移についての詳細は未だ不明である。IV 型結晶を利用した新規製剤開発に向けた基礎的知見を得るため, 各種湿度条件下で

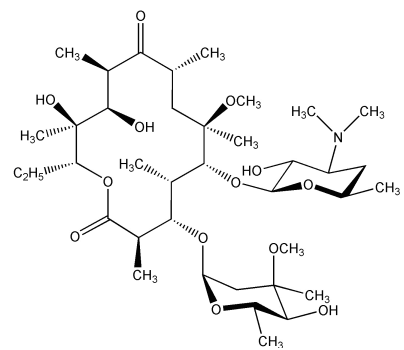


図 1. CAM の化学構造

の IV 型結晶の相転移について粉末 X 線回折法による解析を行った。

### 実験：

CAM をエタノール溶液から再結晶して得られる 0 型結晶を 24 時間減圧乾燥することで I 型結晶の粉末試料を得た。I 型結晶を湿度 97%，24°C の条件下で 24 時間保管することで，IV 型結晶へと完全に相転移させた。IV 型結晶を種々の湿度条件下で保管して相転移が生じた試料を直径 0.3 mm のリンデマンガラスキャピラリーに当該湿度条件下で封入し，BL19B2 [6] に設置された大型デバイシェラーカメラとイメージングプレートを使用して粉末 X 線回折データを測定した。測定時の温度は 298 K とし，X 線の波長は CeO<sub>2</sub> 標準結晶の粉末 X 線回折パターンから 0.99913(1) Å と求めた。選択配向の影響を最小化するため測定中は試料を 1 rpm の速度で回転させた。得られた粉末 X 線回折データから，EXPO2009 [7] を用いて格子定数と空間群の候補を決定し，粉末 X 線回折データから抽出したブラッグ反射の積分強度データを用い，CCP4 [8] を利用して予備的な結晶構造精密化を進めた。

### 結果および考察：

IV 型結晶を相対湿度 40% の条件下で 30 日間保存していた試料では，IV 型結晶よりも低角に回折 X 線ピークが観測されるなど，粉末 X 線回折パターンに変化がみられ，別の結晶型に相転移していることが明らかとなった(図 2)。粉末回折パターンから求めた格子定数は，IV 型結晶と近い値ではあるものの， $\beta = 90.7^\circ$  であり，空間群は  $P2_1$  で非対称単位に CAM 2 分子含む新規結晶(IV-B 型)であると判断した(表 1)。

IV 型結晶の格子定数との比較から，IV-B 型結晶では，その二回らせん軸が IV 型結晶の  $c$  軸に平行な二回らせん軸に対応する様式で CAM 分子が配列しているものと考えられた。Le Bail 法により抽出した IV-B 型結晶のブラッグ反射の積分強度から構造振幅を求め，IV 型結晶構造において  $a$  軸方向に並進の関係にある CAM 2 分子から構成されるモデル分子を利用して，分解能 2.5 Å で分子置換法による初期構造の決定と結晶学的構造精密化を進めたところ， $R$  因子は 25% となった。差フーリエ図

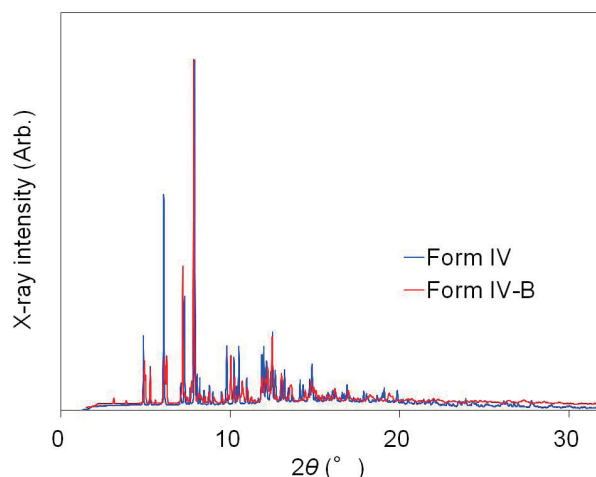


図 2. CAM IV-B 型と IV 型結晶の粉末 X 線回折プロファイル。

表 1. 結晶学的パラメーター

結晶型	IV-B	IV
空間群	$P2_1$	$P2_12_12_1$
格子定数	$a = 18.37 \text{ \AA}$ $b = 15.95 \text{ \AA}$ $c = 14.88 \text{ \AA}$ $\beta = 90.7^\circ$	$a = 15.6999 \text{ \AA}$ $b = 18.8817 \text{ \AA}$ $c = 15.0267 \text{ \AA}$
非対称単位中の CAM 分子数	2	1

から，非対称単位に少なくとも 1 個の水分子が存在していることが示唆された。水分子をモデル

に組み込み、更に精密化を進めたところ、 $R$  因子は 22% に収束した。この予備的に精密化された IV-B 型結晶構造では、CAM 分子の 14 員環部分の水酸基の酸素原子(O6)と、クラジノース環部分の水酸基の酸素原子(O12)が head-to-tail の様式で分子間水素結合を形成しているという、IV 型のみならず I 型や 0 型結晶にも共通する CAM 分子の直鎖状配列構造が保持されていた(図 3)。IV 型から IV-B 型結晶へ相転移が起きた要因としては、結晶水が脱離した可能性が考えられ、VI 型結晶を利用した製剤では湿度変化による多形転移を防止するために非透湿性の高分子コーティング等を施す必要があることが示唆された。また、VI-B 型結晶の非対称単位は非水素原子を 100 個以上含み、粉末 X 線回折法の解析対象試料としては極めて大きいものであったが、BL-19B2 では構造決定可能な粉末 X 線回折強度データを測定できることも明らかとなった。今後、熱重量分析により IV-B 結晶の非対称単位中の水分子の個数を決定し、リートベルト法により IV-B 型結晶構造の精密化を進めていく予定である。

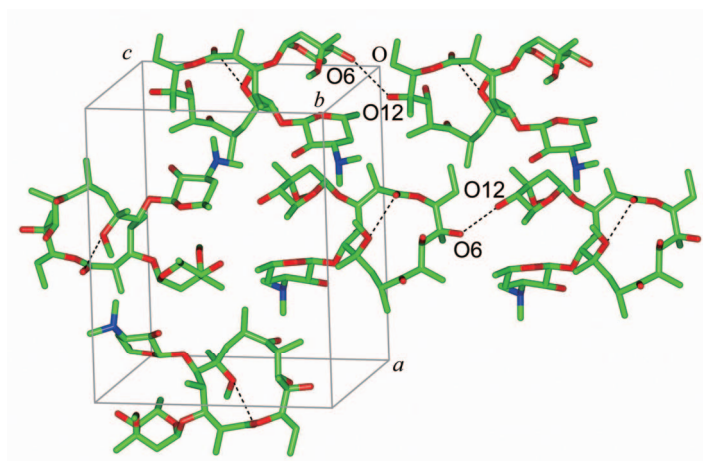


図 3. VI-B 型結晶中における CAM の分子配列

C, N, O 原子は、それぞれ緑、青、赤で示す。点線は水素結合を示す。

#### 参考文献：

- [1] T. Yajima *et al.* *Chem. Pharm. Bull.* **47**, 220 (1999).
- [2] S. Fujiki *et al.* *Chem. Pharm. Bull.* **59**, 553 (2011).
- [3] S. Noguchi, K. Miura, S. Fujiki, Y. Iwao, S. Itai. *Acta Crystallogr.* **C68**, o41 (2012).
- [4] S. Noguchi, S. Fujiki, K. Miura, Y. Iwao, S. Itai. *Acta Crystallogr.* **E68**, o667 (2012).
- [5] 特願 2012-073119 「クラリスロマイシンの徐放性医薬製剤」
- [6] K. Osaka *et al.* *AIP Conf. Proc.* **1234**, 9 (2010).
- [7] A. Altomare *et al.* *J. Appl. Crystallogr.* **42**, 1197 (2009).
- [8] M.D. Winn *et al.*, *Acta Crystallogr.* **D67**, 235 (2011).